

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-535430  
(P2004-535430A)

(43) 公表日 平成16年11月25日(2004.11.25)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

**A61K 45/00**  
**A61K 31/726**  
**A61K 31/732**  
**A61P 35/00**  
**A61P 43/00**

F 1

A 61 K 45/00  
A 61 K 31/726  
A 61 K 31/732  
A 61 P 35/00  
A 61 P 43/00

テーマコード(参考)

4 C 0 8 4  
4 C 0 8 6  
4 C 0 9 0

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-506572 (P2003-506572)  
(86) (22) 出願日 平成14年6月21日 (2002.6.21)  
(85) 翻訳文提出日 平成15年12月19日 (2003.12.19)  
(86) 國際出願番号 PCT/US2002/019885  
(87) 國際公開番号 WO2003/000118  
(87) 國際公開日 平成15年1月3日 (2003.1.3)  
(31) 優先権主張番号 60/299,991  
(32) 優先日 平成13年6月21日 (2001.6.21)  
(33) 優先権主張国 米国(US)  
(31) 優先権主張番号 10/176,235  
(32) 優先日 平成14年6月20日 (2002.6.20)  
(33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 503467137  
グリコジエネシス、 インク.  
G L Y C O G E N E S Y S , I N C .  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O  
2 1 1 6 ボストン 8フロアーセント  
ジェームス アベニュー 31  
3 1 S t . J a m e s A v e . , 8  
t h F l o o r , B o s t o n , M  
A 0 2 1 1 6 (U S )  
(74) 代理人 100127878  
弁理士 遠藤 淳二  
(74) 代理人 100095577  
弁理士 小西 富雅  
(74) 代理人 100100424  
弁理士 中村 知公

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】癌治療の有効性を向上させる方法

## (57) 【要約】

手術、化学療法及び放射線などの従来の癌治療法の効験を、ガレクチンに結合及び相互作用する治療物質の使用により、向上させる。本治療物質はアポトーシスを亢進することでき、腫瘍細胞溶解性薬剤の有効性を増すことができる。また、それは血管形成を阻害することにより、腫瘍の成長及び/又は転移を調節することもできる。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

患者における癌の治療の効果を向上させる方法であって、前記治療が化学療法、放射線療法、手術、及びこれらの組み合わせから成る群より選択され、前記方法が、ガレクチンに結合する化合物を治療上有効量、前記患者に投与するステップと、前記治療を前記患者に施術するステップと、を含む、方法。

**【請求項 2】**

前記ガレクチンが、前記患者の組織の細胞表面上に存在する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記化合物がガレクチン-1又はガレクチン-3に結合する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記化合物が、側鎖を有するポリマ骨格を含み、前記側鎖が末端にガラクトース又はアラビノース単位を有する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記化合物が、ラムノース残基を途中に持つ、実質的にデメトキシリ化したポリガラクツロン酸を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記化合物が糖質を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記糖質が分岐糖質を含む、請求項 6 に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記化合物が改変ペクチンを含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記改変ペクチンがpH改変ペクチンを含む、請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記改変ペクチンが酵素改変ペクチンを含む、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記改変ペクチンが熱改変ペクチンを含む、請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記改変ペクチンが改変シトラス・ペクチンを含む、請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記化合物が少なくとも300ダルトンの分子量を有する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記化合物が300乃至2,000ダルトンの範囲の分子量を有する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 15】**

前記改変ペクチンが1乃至50キロダルトンの範囲の分子量を有する、請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 16】**

前記改変ペクチンが1乃至15キロダルトンの範囲の分子量を有する、請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 17】**

前記改変ペクチンが約10キロダルトンの分子量を有する、請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 18】**

前記化合物を前記患者に投与する前記ステップが、前記化合物を前記患者に注射するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 19】**

前記化合物を前記患者に投与する前記ステップが、前記化合物を前記患者に経口投与するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 20】**

10

20

30

40

50

前記化合物を前記患者に投与する前記ステップが、前記治療を前記患者に施術する前に前記化合物を投与するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記化合物を前記患者に投与する前記ステップが、前記治療を前記患者に施術した後に前記化合物を投与するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記化合物を前記治療と同時に投与する、請求項 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

発明の分野

10

本発明は概略的には癌の治療のための方法及び物質に関する。より具体的には、本発明は癌治療の有効性を向上させる方法及び物質に関する。

【0 0 0 2】

発明の背景

従来の癌治療法は化学療法薬、放射線、及び手術の単独又は組み合わせた使用を含む。医療分野では前述の治療法に基づいた数多くの治療法が開発されてきた。本発明は、前述の治療法の有効性を向上させる働きをすることのできる特殊物質に関するものである。

【0 0 0 3】

ガレクチンは植物及び動物細胞で発現し、 $\alpha$ -ガラクトシド糖に結合するタンパク質の一つファミリーである。これらのタンパク質は細胞表面上にも、細胞質内にも、また細胞外流体中にも見ることができる。これらはおよそで 29 乃至 34 kD の範囲の分子量を有し、また  $\alpha$ -ガラクトシド含有物質に対する親和性を有し、細胞遊走、細胞対細胞接着、血管形成、細胞融合及び他の細胞対細胞の相互作用や、免疫ベースの反応及びアポトーシスを含め、生物学的プロセスにおいて数多くの重要な役割を果たしていることが見出されている。こうしたことから、ガレクチンの役割は癌及び他の増殖性疾患に大変強く結び付けられている。前述の活性を示すガレクチンは数多くあるが、ガレクチン-3及びガレクチン-1が、癌に関する細胞プロセスとの関連とが強く示唆してきた。

20

【0 0 0 4】

ガレクチン-3は分子量が約30,000の糖結合タンパク質である。それは、コラーゲンの特徴である Gly-X-Y タンデム反復配列を含有するアミノ末端部分と、糖結合部位を含有するカルボキシル末端部分という、2つの異なる構造モチーフから成る。ガレクチン-3はほとんどすべての腫瘍に見つかり、 $\alpha$ -ガラクトシド含有糖結合体に対する結合親和性を有する。ガレクチン-3は、細胞対細胞の相互作用を媒介することで、転移を助長する役割を果たしていると考えられている。ガレクチン-3を高発現している細胞は転移しやすく、化学療法又は放射線で誘導されたアポトーシスにより耐性であることが見出されている。また、ガレクチン-3は血管形成を促進する役割も担っていることが文献で報告されている。

30

【0 0 0 5】

ガレクチン-1は、14乃至15kDの大変良く保存されたホモ二量体であり、ガレクチンの中で最も豊富度の高いものの1つである。それは、接着、増殖、遊走及び分化といった細胞間相互作用に対して強い調節作用を発揮することが見出されているラミニンに結合する。この点で、ガレクチン-1は多種の細胞でこれらのプロセスに強く影響することが判明している。また数多くの細胞成長因子及びインターロイキンの分泌に関与していると考えられている。ガレクチン-1は数多くの癌細胞で大変高レベルで発現していることが見出されており、転移への関与も強く示唆されている。

40

【0 0 0 6】

本発明に従って、特定の治療物質がガレクチンに結合することで、他の糖質物質及び/又は細胞との相互作用に関してそれらを失活させることができることが判明した。具体的には、ガレクチン担持細胞を本発明の治療物質で処理すると、これらの細胞の他の細胞及び/又は生体分子との相互作用を阻害し、ひいては血管形成を阻害して、化学療法又は放射線などのアポトーシス誘導型治療法の効率を向上させることができることが、発見された

50

。さらに、本物質は、細胞対細胞相互作用を阻害することで、細胞の外科的除去によりしばしば惹起される転移を阻害して、外科的治療の有効性を向上させることができる。

#### 【0007】

以下に詳述するように、本発明の物質は概略的には天然もしくは合成のポリマ及びオリゴマから成る。これらは毒性が大変低く、これまで使用してきた癌治療法と相乗的に相互作用して、その有効性を向上させる。本発明を用いると、化学療法及び放射線など、毒性の可能性のある治療法の施術量を減らせるであろう。同様に、外科的療法の有効性は本発明の使用により高められる。例えば本発明の方法は術後の転移プロセスを阻害するよう作用するため、本発明を用いることにより、外科医は、突然の転移発生の可能性という制限を受けることなく、より侵襲的な外科的治療法を実施することができる。本発明のこれら及び他の長所を以下に解説する。

#### 【0008】

##### 発明の簡単な説明

ここに、患者における癌治療の効率を向上させる方法を開示する。向上させようとする治療法は、化学療法、放射線治療、手術及びこれらの組み合わせを含むものでよい。本発明の方法は、ガレクチンに結合する化合物を治療上有効量、患者に投与するステップを含む。本化合物は、他の治療の前でも、後でも、又は同時に投与してもよい。

#### 【0009】

好適なクラスの本発明の治療物質は、側鎖を有するポリマ骨格を含むものである。当該側鎖は末端にガラクトース又はアラビノース単位を持つ。本物質は合成でも、天然でも、又は半合成のものでもよい。ある具体的な実施態様では、本治療化合物は、ラムノース残基を途中に持つ実質的にデメトキシリ化したポリガラクツロン酸骨格を含むものである。

#### 【0010】

概略的には、本発明の物質は300ダルトンを越える分子量を有する。ある特定の物質群は300乃至2,000ダルトンの範囲の分子量を有する。本発明の物質がペクチンなどの複合糖質に基づく場合、好適な物質群は1乃至5キロダルトンの範囲の分子量を有するものである。本発明の治療物質は、治療しようとする特定の癌種、及び補助的治療法に応じて、経口でも、注射でも、経皮でも、又は局所的に投与してもよい。

#### 【0011】

##### 発明の詳細な説明

本発明では、化学療法、手術及び放射線などの従来の癌治療の有効性は、ガレクチンと相互作用する治療物質を用いると向上させることができると認識している。

#### 【0012】

ガレクチンはin vitroではガラクトース及び他のこのような单糖類に結合することが知られているが、これらの糖類は、in vivoではガレクチン媒介性細胞プロセスを調節する上では治療上、有効でない。憶測に縛られることを望む訳ではないが、本発明者は、比較的に小さな糖分子では、ガレクチンたんぱくの他の部分を持続的に遮断、活性化、抑制、又は相互作用できないのではないかと考える。従って、本発明の実施にとって好適な物質には、概略的には、活性ガレクチン結合糖部位を含有するが、单糖よりも幾分高い分子量を有するような分子が含まれる。このような分子は好ましくは少なくとも300ダルトンの最小分子量を有し、そして最も典型的には300乃至2,000ダルトンの範囲の最小分子量を有するとよい。いくつかの特に好適な物質はさらに高い分子量範囲を有する。好適なクラスの治療物質には、ガラクトース又はアラビノースなどの糖を一個以上、側基に有するオリゴマ種又はポリマ種が含まれる。前記オリゴマ又はポリマの骨格は合成でも、又は有機のものでもよい。この種類の物質が、引用をもってその開示をここに援用することとする米国特許(EX SN 09/750,726)に開示されている。このような物質は、好ましくは、300乃至50,000ダルトンの範囲の分子量を有し、ある1つの特定の物質は、ガラクトースを末端に持つ側鎖を、側基として持つセルロース骨格を含むものである。高分子量の糖質の分子量測定には固有の不確定性があり、測定される分子量は、用いる分子量測定法に幾分依存するであろうことは念頭に置かなければならない。ここに記載する分子量は粘度測定に基

10

20

30

40

50

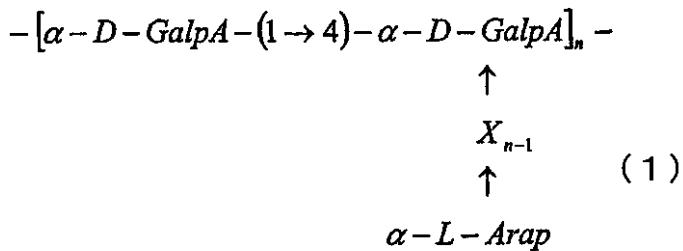
づくものであり、このような技術は当業で公知である。

【0013】

この一般的なクラスに入る物質群の1つは、ラムノース残基を側基に有する、実質的にデメトキシリ化したポリガラクトロン酸骨格を含むものである。この種類の物質では、骨格から伸びた末端のガラクトース又はアラビノース単位がガレクチンたんぱくに結合すると考えられる。この分子の残りの本体は、免疫系応答を調節するこの化合物の作用を増強する。そして上述したように、本発明者は、憶測に縛られることを望む訳ではないが、この分子の残りの本体がガレクチンたんぱくの残りの部分と相互作用する、及び／又は、それに対する糖部分の結合を延長する、と考える。この種類の物質を下の式I、II及びIIIに解説するが、この一般式の化合物のさらに他の変異体も、本発明の原則に従って調製及び使用できるであろうことは理解されたい。

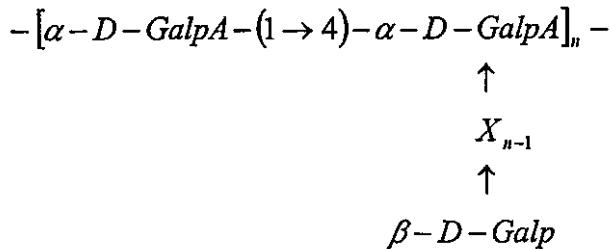
【0014】

【化1】



10

20



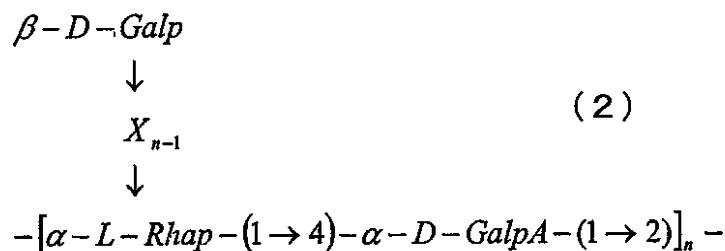
30

【0015】

但し上の式において $n = 1$ 。

【0016】

【化2】



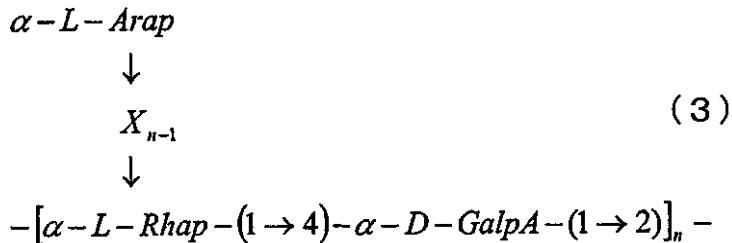
40

【0017】

但し上の式において $n = 1$ 。

【0018】

【化3】



【0019】

10

但し上の式において $n = 1$ 。

【0020】

20

ペクチンは、多数の分岐側鎖を側基に持つポリガラクトロン酸骨格から成る高度に分岐した構造を有する複合糖質である。この分岐により、「スムース」と「ヘアリー」に特徴付けられる領域が生じている。ペクチンは、様々な化学的、酵素的又は物理的処理で改変してこの分子をより小型に分割し、分岐が減少したラムノース残基の側鎖を持つ、より直線状の、実質的にデメトキシリ化したポリガラクトロン酸骨格をもつ部分にできることが、見出されている。この物質は当業で改変ペクチンとして公知であり、この種類のガレクチン遮断物質は手術、化学療法又は放射線と併用されたことはないが、癌を治療する上でのその効験が確立されている。

20

【0021】

30

その開示を引用をもってここに援用することとする米国特許第5,895,784号では、改変ペクチン物質、それらの調製技術、及び多種の癌の治療としての該物質の使用法が解説されている。前記'784号特許の物質は、ペクチンを溶液に入れ、計画的に変更される一連のpHに暴露してこの分子を分解し、治療上有効な改変ペクチンにする、といったpHベースの改変法により調製される、と解説されている。この'784号特許の物質はシトラス・ペクチンから調製されることが最も好ましいが、例えばリンゴ・ペクチン等、他の源から得られるペクチン開始材料からも改変ペクチンを調製してよいことは理解されたい。また、改変プロセスは、ペクチンの酵素処理や、又は、加熱などの物理的プロセスによって、行ってもよい。改変ペクチン及びそれらの調製方法や使用に関する更なる開示は、その開示を引用をもってここに援用することとする米国特許第5,834,442号及び米国特許出願第08/024,487号にも開示されている。この種類の改変ペクチンは一般に1乃至50キロダルトンの範囲の分子量を有するが、このような物質の好適な群は、1乃至15キロダルトンの範囲の平均分子量を有するものであり、特に約10キロダルトンの分子量を有する物質群が好ましい。

【0022】

30

従来技術で開示されたように、このような改変ペクチン物質は多種の癌に対して治療効果を有する。これらの物質は、ガレクチン-1及びガレクチン-3を含むガレクチンと相互作用し、その意味で、免疫ベースの疾患に対しても効果を有する。本発明によれば、従来の癌治療の効果は、ガレクチンと相互作用するペクチン物質及び他の物質の使用により、向上する。これらの物質は経口投与してもよいが、又は、静脈注射、又は、例えば腫瘍部位への注射など、罹患組織への直接注射によっても、投与してもよい。場合によっては、本物質を、手術実施時に局所的に用いてもよい。さらに、例えば経皮送達系、吸入、皮下移植等の他の手法を用いてもよい。

40

【0023】

ガンマ線や粒子線を含む癌のための放射線治療や、腫瘍の化学療法薬は細胞傷害性があり、癌を治療する上でのそれらの有効性は、癌細胞は通常、それらの急速な代謝のために、又は、正常細胞が用いないような生化学経路を用いているために、正常細胞よりもこのような細胞傷害性治療に対してより感受性がある、という事実に基づいている。これらの治療法は、アボトーシスとも呼ばれるプログラムされた細胞死を活性化することにより、それらの細胞傷害性をもたらすと考えられる。細胞は致命的なレベルの損傷を受けたときに

50

アポトーシスを起こす。アポトーシス性及び抗アポトーシス性の間で細胞内シグナル伝達経路の活性化のバランスがとれていることが、アポトーシスを起こすかどうか、又は、内部修復を試みるか、という細胞の決定にとって重要である。ガレクチン、特にガレクチン-3が、アポトーシス耐性及び腫瘍の進行の両者に関与していることが実証されている。

#### 【0024】

ガレクチン-3は、シスプラチニン、ゲニステイン等の腫瘍治療材で処理された細胞でのアポトーシスの阻害に関与していると示唆されている。ゲニステインは検出可能な細胞周期の停止を起こすことなくアポトーシスを効果的に誘導することが、検出可能なレベルのガレクチン-3を発現しないヒト乳房上皮細胞系を含むBT549細胞において、見出されている。  
しかしながら、ガレクチン-3をトランスフェクトしたBT549細胞をゲニステインで処理すると、G(2)/M相での細胞周期停止が起きて、アポトーシスの誘導は行われない (Lin et al. *Galectin-3 mediates genistein-induced G(2)/M arrest and inhibits apoptosis.Carcinoogenesis* 2000 Nov.; 21 (11): 1941-5)。さらに、BT549細胞はアノイキス (原語: anoikis) を起こすが、ガレクチン-3過剰発現性BT549細胞は、検出可能な細胞死を起こすことなく、G1停止により誘導される細胞接着の消失に応答することが見出されている。さらにいくつかの研究で、ガレクチン-3が、転移中の循環系で内転移しつつある癌細胞の足場非依存的細胞生存の重要な決定因子であると示されている (Kim et al. *Cell cycle arrest and inhibition of anoikis by galectin-3 in human breast epithelial cells.Cancer Res.* 1999 Aug. 15; 59 (16): 4148-54)。

#### 【0025】

さらにガレクチン-3は、細胞対細胞、及び、細胞対マトリックスの相互作用を抑えることにより、アポトーシスから細胞を保護することが示されており、また、腫瘍の進行及び転移に関与していることも示されている。ガレクチン-3をトランスフェクトしたヒト乳房癌細胞を、ガレクチン-3を発現しないそれらの親細胞株に比較すると、この過剰発現細胞では：（1）直接、及び／又は、特定のインテグリンの発現増加を介して、の両方を通じて起きる、ラミニン、フィブロネクチン及びビトロネクチンへの接着が有意に向上去っていること、またこの細胞は（2）癌の伝播に関連する細胞骨格因子、即ちミクロフィラメント、のリモデリングも示したこと；そして（3）サイトカイン及び放射線などの様々なアポトーシス性刺激への暴露時に生存率が向上すること、が見られる (Matarrese et al. *Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties.Int.J Cancer* 2000 Feb. 15; 85 (4):545-54)。

#### 【0026】

血管形成を促進するまでのガレクチンの役割も示されている。原発腫瘍が成長又は転移するためには、この腫瘍細胞に栄養を与え、支援する血管を形成するよう、内皮細胞に命令する化学的情報を、この細胞は放出に違いないことが知られている。さらにガレクチンは転移及び血管形成のプロセスに関与していることが証明されている。ガレクチン-3は、走化性及び形態に影響し、*in vitro*ではIIUV-EC-Cの毛管形成、そして*in vivo*では血管形成を刺激することが示されている。内皮細胞形態発生は、特定の糖及び抗体により中和される糖質依存的プロセスである。これらの発見は、内皮細胞表面の糖質認識という事象が、内皮細胞の分化及び血管形成につながるシグナル伝達カスケードを誘導している可能性を示している (Nangia-Makker et al. *Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis.Am. J Pathol. 2000 Mar. ; 156 (3): 899-909*)。本発明の物質は、ガレクチンと相互作用して血管形成を阻害することが実証されている。

#### 【0027】

明らかに、ガレクチン全般や、特にガレクチン-3は、癌細胞の成長及び増殖に対し、多様かつ大変大きな影響を持つことが示されている。さらに、ガレクチンの活性を遮断又は中和する化合物は、血管形成を阻害し、アポトーシスを促進する。従って、このような物質は、腫瘍細胞溶解型の治療の効果を向上するであろう。さらに、このような物質は、血管形成及び／又は転移を強く阻害することが示されており、従ってこれらの物質は、腫瘍部位の外科的破壊で誘導される転移発生を防ぐ又は最小限にするだろう。

10

20

30

40

50

**【 0 0 2 8 】**

本発明に従うと、ガレクチン結合性治療物質を、手術、放射線又は化学療法などの従来の治療と併用して患者に投与する。腫瘍又は非癌性細胞中のガレクチンと相互作用かつ結合するために充分な時間があるように、本物質を従来の治療法の施術前に投与することが最も好ましい。癌及び治療法の性質に応じ、ガレクチン結合性治療物質の投与を、他の治療の施術中、及び／又は、施術後に、続行してもよい。ガレクチン結合性物質の投与は、一回の用量にして行っても、又は、複数回の用量にして行ってもよい。場合によっては、本治療物質の投与を、従来の治療法の少なくとも数日前に開始する。他の場合では、従来の治療法の施術直前又は施術時のいずれかに、投与を開始する。場合によっては、とくに外科的治療法の場合では、本糖質物質を、当該治療法の施術前、施術中及び施術後の両方で適宜投与してもよい。10

**【 0 0 2 9 】**

前述の議論は主に、改変ペクチン物質や、ガレクチン-1及び3と相互作用する物質に関するものであるが、他のガレクチンも多種の癌の進行に関与していることが知られており、改変ペクチン物質や上に論じた他の治療物質の両者とも、ガレクチンと相互作用することを理解されたい。従って、他の物質及び方法を、本発明の実施に利用してもよい。前記の議論及び解説は特定の実施態様を描出したものであるが、その実施にあたった限定を意図してはいない。あらゆる同等物を含め、以下の請求の範囲が、本発明を定義するものである。

## 【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
3 January 2003 (03.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number  
**WO 03/000118 A2**(51) International Patent Classification<sup>5</sup>: A61B

(81) Designated States (national): A11, AG, A12, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CI1, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI1, GM, IIR, IIU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(26) Publication Language: English

English

(30) Priority Data:  
60/209,991 21 June 2001 (21.06.2001) US  
10/176,235 20 June 2002 (20.06.2002) US

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AL, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SI, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant: GLYCOGENESYS, INC. [US/US]; 31 St. James Ave., 8th Floor, Boston, MA 02116 (US).

Published:  
without international search report and to be republished upon receipt of that report

(72) Inventors: CHANG, Yang; 71 Winter Street, Ashland, MA 01721 (US). SASEK, Vodek; 10 Agawam Drive, Northboro, MA 01532 (US).

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(74) Agents: CITROWSKI, Roland, W., et al.; Gilford, Krass, Grob, Sprinkle, Anderson, &amp; Citrowski, P.C., 280 N. Old Woodward Ave., Ste 400, Birmingham, MI 48009 (US).

WO 03/000118 A2

(54) Title: METHOD FOR ENHANCING THE EFFECTIVENESS OF CANCER THERAPIES

(57) Abstract: The efficacy of conventional cancer therapies such as surgery, chemotherapy and radiation is enhanced by the use of a therapeutic material which binds to and interacts with galactins. The therapeutic material can enhance apoptosis thereby increasing the effectiveness of oncolytic agents. It can also inhibit angiogenesis thereby moderating tumor growth and/or metastasis.

WO 03/000118

PCT/US02/19885

1

**METHOD FOR ENHANCING THE  
EFFECTIVENESS OF CANCER THERAPIES**

**Field of the Invention**

This invention relates generally to methods and materials for the treatment of cancer. More specifically, the invention relates to methods and materials for enhancing the effectiveness of cancer therapies.

**Background of the Invention**

Conventional treatment for cancers involves the use of chemotherapeutic agents, radiation, and surgery, either alone or in combination. The medical arts have developed a number of treatments based upon the foregoing therapies. The present invention is directed to specific materials which can act to enhance the effectiveness of the foregoing therapies.

Galectins comprise a family of proteins which are expressed by plant and animal cells and which bind  $\beta$ -galactoside sugars. These proteins can be found on cell surfaces, in cytoplasm, and in extracellular fluids. They have a molecular weight in the general range of 29-34 kD; they have an affinity for  $\beta$ -galactoside containing materials, and have been found to play a number of important roles in biological processes including cell migration, cell-cell adhesion, angiogenesis, cell fusion and other cell-cell interactions, as well as immune-based reactions and apoptosis. As such, the role of galectins is very strongly tied to cancer and other proliferative diseases. While there are a large number of galectins which manifest the foregoing activities, galectin-3 and galectin-1 have been strongly implicated in connection with cellular processes involving cancers.

Galectin-3 is a carbohydrate binding protein having a molecular weight of approximately 30,000. It is composed of two distinct structural motifs, an amino-terminal portion containing Gly-X-Y tandem repeats which are characteristic of collagens, and a carboxyl-terminal portion containing a carbohydrate binding site. Galectin-3 is found in almost all tumors, and has a binding affinity for  $\beta$ -galactoside-containing glyco-conjugates. Galectin-3 is believed to play a role in mediating cell-cell interactions and thereby fostering

metastasis. It has been found that cells which have high expressions of galectin-3 are more prone to metastasis and are more resistant to apoptosis induced by chemotherapy or radiation. It has also been reported in the literature that galectin-3 plays a role in promoting angiogenesis.

5 Galectin-1 is a highly conserved homodimer of 14-15 kD and is one of the most abundant of the galectins. It binds to laminin which has been found to exert strong regulatory effects on cellular interactions such as adhesion, proliferation, migration and differentiation. In this regard, galectin-1 has been found to strongly influence these processes in various cells. It is believed to be  
10 implicated in the secretion of a number of cellular growth factors and interleukins. Galectin-1 has been found to be expressed at very high levels in many cancer cells and is strongly implicated in metastasis.

In accord with the present invention, it has been found that certain therapeutic materials can bind to galectins thereby inactivating them toward  
15 interaction with other carbohydrate materials and/or cells. Specifically, it has been found that treatment of galectin bearing cells with the therapeutic materials of this invention can inhibit the interaction of those cells with other cells and/or biomolecules and thereby inhibit angiogenesis and enhance the efficacy of apoptosis-inducing therapies such as chemotherapy or radiation.  
20 Furthermore, these materials can inhibit cell-cell interactions and thereby enhance the effectiveness of surgical therapies by inhibiting metastases, which are often initiated by surgical dislodgement of cells.

As will be explained in detail hereinbelow, the materials of the present  
25 invention are generally comprised of natural or synthetic polymers and oligomers. They are very low in toxicity and interact synergistically with heretofore employed cancer therapies so as to increase the effectiveness thereof. Through the use of the present invention, the dosages of potentially toxic therapies such as chemotherapies and radiation may be reduced. Likewise, the effectiveness of surgical therapies is enhanced by the use of the  
30 present invention. For example, since the methodology of the present invention acts to inhibit the post-surgery metastatic process, use of this

invention allows a surgeon to implement more aggressive surgical therapies without being limited by the possibility of precipitating metastatic events. These and other advantages of the invention will be discussed hereinbelow.

**Brief Description of the Invention**

5 There is disclosed herein a method for enhancing the efficacy of a therapeutic treatment for cancer in a patient. The treatment being enhanced may comprise chemotherapy, radiation therapy, surgery and combinations thereof. The method of the present invention comprises administering to a patient a therapeutically effective amount of a compound which binds to a  
10 galectin. This compound may be administered prior to, after, or concomitant with the other treatment.

A preferred class of therapeutic materials of the present invention comprises a polymeric backbone having side chains dependent therefrom. The side chains are terminated by a galactose or arabinose unit. This material may  
15 be synthetic, natural, or semi-synthetic. In one particular embodiment, the therapeutic compound comprises a substantially demethoxylated polygalacturonic acid backbone which is interrupted with rhamnose residues.

In general, the materials of the present invention have a molecular weight in excess of 300 dalton. One specific group of materials has a  
20 molecular weight in the range of 300 to 2,000 daltons. In those instances where the materials of the present invention are based upon complex carbohydrates such as pectins, a preferred group of materials has a molecular weight in the range of 1-50 kilodalton. The therapeutic materials of the present invention may be administered orally, by injection, transdermally, or by topical  
25 application, depending upon the specific type of cancer being treated, and the adjunct therapy.

**Detailed Description of the Invention**

The present invention recognizes that the effectiveness of conventional cancer therapies such as chemotherapy, surgery and radiation can be enhanced  
30 through the use of a therapeutic material which interacts with galectins.

WO 03/000118

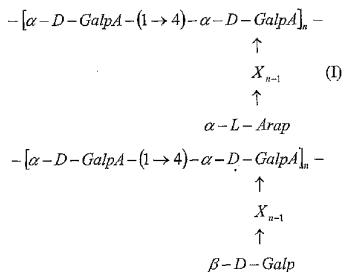
PCT/US02/19885

4

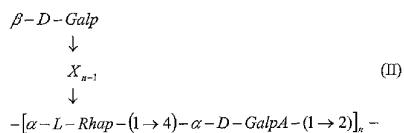
While galectins are known to bind galactose and other such simple sugars *in vitro*, those simple sugars are not therapeutically effective in moderating galectin mediated cellular processes *in vivo*. While not wishing to be bound by speculation, the inventors hereof presume that relatively small sugar molecules are incapable of sustainably blocking, activating, suppressing, or otherwise interacting with other portions of the galectin protein. Therefore, preferred materials for the practice of the present invention generally comprise molecules which contain an active galectin binding sugar site, but which have somewhat higher molecular weights than simple sugars. Such molecules preferably have a minimum molecular weight of at least 300 daltons, and most typically a minimum molecular weight in the range of 300-2,000 daltons. Some specifically preferred materials have yet higher molecular weight ranges. A preferred class of therapeutic materials comprises oligomeric or polymeric species having one or more sugars such as galactose or arabinose pendent therefrom. The oligomeric or polymeric backbone may be synthetic or organic. Materials of this type are disclosed in U.S. Patent No. (EX SN 09/750,726) the disclosure of which is incorporated herein by reference. Such materials will preferably have a molecular weight in the range of 300-50,000 daltons and one particular material comprises a cellulose backbone with galactose terminated side chains pendent therefrom. It should be kept in mind that there is some inherent uncertainty in molecular weight measurements of high molecular weight carbohydrates, and measured molecular weights will be somewhat dependent on the method used for measuring the molecular weight. Molecular weights given herein are based on viscosity measurements, and such techniques are known in the art.

One group of materials falling within this general class comprises a substantially demethoxylated polygalacturonic acid backbone having rhamnose residues pendent therefrom. It is believed that in materials of this type, the terminal galactose or arabinose units pendent from the backbone bind to galectin proteins. The remaining bulk of the molecule potentiates the compound's action in moderating immune system response; and as discussed

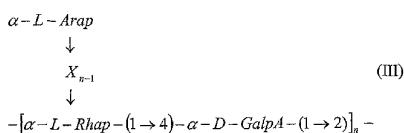
hereinabove, the inventors, while not wishing to be bound by speculation, believe that the remaining bulk of the molecule either interacts with remaining portions of the galectin protein and/or prolongs the binding of the sugar portion thereto. Materials of this general type are described by formulas I, II and III 5 hereinbelow, and it is to be understood that yet other variants of this general compound may be prepared and utilized in accord with the principles of the present invention.



10 where n ≥ 1.



where n ≥ 1.



where n ≥ 1.

Pectin is a complex carbohydrate having a highly branched structure comprised of a polygalacturonic backbone with numerous branching side chains dependent therefrom. The branching creates regions which are characterized as being "smooth" and "hairy." It has been found that pectin can 5 be modified by various chemical, enzymatic or physical treatments to break the molecule into smaller portions having a more linearized, substantially demethoxylated polygalacturonic backbone with pendent side chains of rhamnose residues having decreased branching. This material is known in the art as modified pectin, and its efficacy in treating cancer has been established; 10 although galectin blocker materials of this type have not been used in conjunction with surgery, chemotherapy or radiation.

U.S. Patent 5,895,784, the disclosure of which is incorporated herein by reference, describes modified pectin materials, techniques for their preparation, and use of the material as a treatment for various cancers. The material of the 15 '784 patent is described as being prepared by a pH based modification procedure in which the pectin is put into solution and exposed to a series of programmed changes in pH which results in the breakdown of the molecule to yield therapeutically effective modified pectin. The material in the '784 patent is most preferably prepared from citrus pectin; although, it is to be understood 20 that modified pectins may be prepared from pectin starting material obtained from other sources, such as apple pectin and the like. Also, modification processes may be accomplished by enzymatic treatment of the pectin, or by physical processes such as heating. Further disclosure of modified pectins and techniques for their preparation and use are also disclosed in U.S. Patent 25 5,834,442 and U.S. Patent Application Serial No. 08/024,487, the disclosures of which are incorporated herein by reference. Modified pectins of this type generally have molecular weights in the range of 1-50 kilodalton, and a preferred group of such materials has an average molecular weight in the range 30 of 1-15 kilodalton, with a specific group of materials having a molecular weight of about 10 kilodalton.

As disclosed in the prior art, such modified pectin materials have therapeutic efficacy against a variety of cancers. These materials interact with galectins, including galectin-1 and galectin-3, and in that regard also have efficacy against immune based diseases. In accord with the present invention, 5 the effect of conventional cancer therapies is enhanced by use of pectin materials and other materials which interact with galectins. These materials may be administered orally; or by intravenous injection; or by injection directly into an affected tissue, as for example by injection into a tumor site. In some instances the materials may be applied topically at the time surgery is carried 10 out. Also, other techniques such as transdermal delivery systems, inhalation, subcutaneous implantation, or the like may be employed.

Radiation therapy for cancer, which includes gamma radiation as well 15 as particle beams, and oncolytic chemotherapeutic agents are cytotoxic, and their effectiveness in treating cancer is based upon the fact that cancerous cells are generally more sensitive to such cytotoxic therapies than are normal cells either because of their rapid metabolism, or because they employ biochemical pathways not employed by normal cells. It is believed that these therapies exert their cytotoxic effects by activating programmed cell death, also referred to as apoptosis. Cells undergo apoptosis when they undergo a critical level of 20 damage. A balance between the activities of apoptotic and anti-apoptotic intracellular signal transduction pathways is important toward a cell's decision of whether to undergo apoptosis or to attempt internal repair. It has been demonstrated that galectins, and specifically galectin-3, are involved in both apoptosis resistance and tumor progression.

Galectin-3 has been implicated in inhibiting apoptosis in cells treated 25 with oncolytic agents such as cisplatin, genistein and the like. It was found that genistein effectively induces apoptosis, without detectable cell cycle arrest, in BT549 cells, which comprise a human breast epithelial cell line that does not express detectable levels of galectin-3. However, when galectin-3 transfected 30 BT549 cells are treated with genistein, cell cycle arrest at the G(2)/M phase takes place without apoptosis induction (Lin et al. Galectin-3 mediates

genistein-induced G(2)/M arrest and inhibits apoptosis. *Carcinogenesis* 2000 Nov.; 21(11):1941-5). It was also found that although BT549 cells undergo anoikis, galectin-3 overexpressing BT549 cells respond to the loss of cell adhesion induced by G1 arrest without detectable cell death. Studies also suggest that galectin-3 is a critical determinant for anchorage-independent cell survival of disseminating cancer cells in the circulation during metastasis. (Kim et al. Cell cycle arrest and inhibition of anoikis by galectin-3 in human breast epithelial cells. *Cancer Res.* 1999 Aug. 15; 59(16):4148-54).

Galectin-3 has also been shown to protect cells from apoptosis by moderating cell-cell and cell-matrix interaction, and has been shown to be involved in tumor progression and metastasis. When galectin-3 transfected human breast cancer cells are compared with their parent cell line which do not express galectin-3, it is found that the overexpressing cells: (1) had a significantly enhanced adhesion to laminin, fibronectin and vitronectin exerted both directly and/or via increased expression of specific integrins; the cells also exhibited (2) a remodeling of those cytoskeletal elements associated with cell spreading, i.e. microfilaments; and (3) enhanced survival upon exposure to different apoptotic stimuli such as cytokine and radiation (Matarrese et al. Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties. *Int. J. Cancer* 2000 Feb. 15; 85(4):545-54).

The role of galectins in promoting angiogenesis has also been shown. It is known that in order for a primary tumor to grow or metastasize the cell must release chemical information instructing endothelial cells to form blood vessels which nourish and support the tumor cell. Galectins have also proven to be involved in the processes of metastasis and angiogenesis. It is shown that galectin-3 affects chemotaxis and morphology, and stimulates capillary tube formation of IIUV-EC-C *in vitro* and angiogenesis *in vivo*. Endothelial cell morphogenesis is a carbohydrate-dependent process which is neutralized by specific sugars and antibodies. These findings demonstrate that endothelial cell surface carbohydrate recognition events can induce a signaling cascade leading to the differentiation and angiogenesis of endothelial cells (Nangia-Makker et

al. Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. *Am. J. Pathol.* 2000 Mar.; 156(3):899-909). The materials of the present invention have been demonstrated to interact with galectins and inhibit angiogenesis.

Clearly, galectins in general and galectin-3 in particular have been demonstrated to have diverse and very significant effects on the growth and proliferation of cancer cells. Furthermore, compounds which block or neutralize the activity of galectins inhibit angiogenesis and promote apoptosis. Therefore, such material will beneficially enhance the effects of oncolytic therapies. Also, it has been demonstrated that such materials will strongly inhibit angiogenesis and/or metastasis; therefore, these materials will prevent or minimize metastatic events induced by surgical disruption of a tumor site.

In accord with the present invention, a galectin binding therapeutic material is administered to a patient, in combination with conventional therapies such as surgery, radiation or chemotherapy. The material is most preferably administered prior to the administration of the conventional therapy, so as to allow it sufficient time to interact with and bind to galectins in the tumor or in non-cancerous cells. Depending on the nature of the cancer and the therapy, administration of the galectin binding therapeutic material may be continued while the other therapy is being administered and/or thereafter. Administration of the galectin binding material may be made in a single dose, or in multiple doses. In some instances, administration of the therapeutic material is commenced at least several days prior to the conventional therapy, while in other instances, administration is begun either immediately before or at the time of the administration of the conventional therapy. In some instances, particularly with regard to surgical therapies, the carbohydrate material may be advantageously administered both before, during and after the therapy.

The foregoing discussion has been primarily directed toward modified pectin materials and materials which interact with galectins-1 and 3; however, it is to be understood that other galectins are also known to be involved in the progress of various cancers, and both the modified pectin material as well as

WO 03/000118

PCT/US02/19885

10

the other therapeutic materials discussed hereinabove interact with galectins. Therefore, other materials and methods may be employed in the practice of the present invention. The foregoing discussion and description is illustrative of specific embodiments, but is not meant to be a limitation upon the practice thereof. It is the following claims, including all equivalents, which define the scope of the invention.

**Claims**

1        1. A method for enhancing the efficacy of a therapeutic treatment  
2        for cancer in a patient, said therapeutic treatment being selected from the group  
3        consisting of: chemotherapy, radiation therapy, surgery, and combinations  
4        thereof, said method comprising the steps of:  
5            administering to said patient a therapeutically effective amount of a  
6        compound which binds to a galectin; and  
7            administering said therapeutic treatment to said patient.

1        2. The method of claim 1, wherein said galectin is present on the  
2        cell surface of a tissue of said patient.

1        3. The method of claim 1, wherein said compound binds to  
2        galectin-1 or galectin-3.

1        4. The method of claim 1, wherein said compound comprises a  
2        polymeric backbone having side chains dependent therefrom, said side chains  
3        being terminated by a galactose or arabinose unit.

1        5. The method of claim 1, wherein said compound comprises a  
2        substantially demethoxylated polygalacturonic acid which is interrupted with  
3        rhamnose residues.

1        6. The method of claim 1, wherein said compound comprises a  
2        carbohydrate.

1        7. The method of claim 6, wherein said carbohydrate comprises a  
2        branched carbohydrate.

1        8. The method of claim 1, wherein said compound comprises a  
2        modified pectin.

1           9.     The method of claim 8, wherein said modified pectin comprises  
2     a pH modified pectin.

1           10.    The method of claim 9, wherein said modified pectin comprises  
2     an enzymatically modified pectin.

1           11.    The method of claim 8, wherein said modified pectin comprises  
2     a thermally modified pectin.

1           12.    The method of claim 8, wherein said modified pectin comprises  
2     a modified citrus pectin.

1           13.    The method of claim 1, wherein said compound has a molecular  
2     weight of at least 300 dalton.

1           14.    The method of claim 1, wherein said compound has a molecular  
2     weight in the range of 300-2,000 dalton.

1           15.    The method of claim 8, wherein said modified pectin has a  
2     molecular weight in the range of 1-50 kilodalton.

1           16.    The method of claim 8, wherein said modified pectin has a  
2     molecular weight in the range of 1-15 kilodalton.

1           17.    The method of claim 8, wherein said modified pectin has a  
2     molecular weight of approximately 10 kilodalton.

1           18.    The method of claim 1, wherein said step of administering said  
2     compound to said patient comprises injecting said compound into said patient.

WO 03/000118

PCT/US02/19885

13

1           19. The method of claim 1, wherein said step of administering said  
2 compound to said patient comprises orally administering said compound to  
3 said patient.

1           20. The method of claim 1, wherein said step of administering said  
2 compound to said patient comprises administering said compound prior to  
3 administering said therapeutic treatment to said patient.

1           21. The method of claim 1, wherein said step of administering said  
2 compound to said patient comprises administering said compound to said  
3 patient after said therapeutic treatment is administered to said patient.

1           22. The method of claim 1, wherein said compound is administered  
2 concomitant with said therapeutic treatment.

## 【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
3 January 2003 (03.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 03/000118 A3

(51) International Patent Classification<sup>5</sup>: A61K 31/715    (81) Designated States (national): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CI, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KU, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(21) International Application Number: PCT/US02/19885

(22) International Filing Date: 21 June 2002 (21.06.2002)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:  
60/299,991 21 June 2001 (21.06.2001) US  
10/176,235 20 June 2002 (20.06.2002) US

(71) Applicant: GLYCOGENESYS, INC. [US/US]; 31 St. James Ave., 8th Floor, Boston, MA 02116 (US).

(72) Inventors: CHANG, Yang; 71 Winter Street, Ashland, MA 01721 (US); SASEK, Vodek; 10 Agawam Drive, Northboro, MA 01532 (US).

(74) Agents: CITROWSKI, Roland, W., et al.; Gifford, Krass, Groh, Sprinkle, Anderson, &amp; Citrowski, P.C., 280 N. Old Woodward Ave., Ste 400, Birmingham, MI 48009 (US).

(81) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,

KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, VM, ZW),

Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),

European patent (AT, BE, CI, CY, DE, DK, ES, FI, FR,

GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA/PI patent

(BI, BJ, CI, CG, CL, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,

NE, SN, TD, TG).

Published:  
— with international search report

(88) Date of publication of the international search report:  
10 April 2003

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

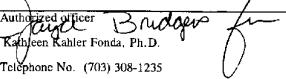


WO 03/000118 A3

(54) Title: METHOD FOR ENHANCING THE EFFECTIVENESS OF CANCER THERAPIES

(57) Abstract: The efficacy of conventional cancer therapies such as surgery, chemotherapy and radiation is enhanced by the use of a therapeutic material which binds to and interacts with galectins. The therapeutic material can enhance apoptosis thereby increasing the effectiveness of oncolytic agents. It can also inhibit angiogenesis thereby moderating tumor growth and/or metastasis.

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/19885
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
IPC(7) : A61K 31/715 US CL : 514/53, 54, 61, 62 <i>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</i>		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/53, 54, 61, 62		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched none		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5,490,991 A (ENRIQUEZ et al.) 13 February 1996 (13.02.1996), column 6, lines 8-31.	1-4, 6, 7, 13, and 18-22
Y	US 5,895,784 A (RAZ et al.) 20 April 1999 (20.04.1999), see the abstract.	1, 5, 8-12, and 14-17
A,P	RABINOVICH, G.A. et al. Galactins and Their Ligands: Amplifiers, Silencers or Tuners of the Inflammatory Response? Trends in Immunology. June 2002, Vol. 23, No. 6, pages 313-320.	1-22
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 18 September 2002 (18.09.2002)	Date of mailing of the international search report 17.09.2002	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230	Authorized officer  Kathleen Kahler Fonda, Ph.D. Telephone No. (703) 308-1235	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/19885

**Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:**  
search terms:  
databases:

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

---

フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
C 0 8 B 37/00	C 0 8 B 37/00	G
// C 0 8 B 37/06	C 0 8 B 37/06	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU, ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 チャン , ヤン  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 01721 アッシュランド ウィンター ストリート  
71

(72)発明者 ササック , ボデック  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 01532 ノースボロ アガワム ドライブ 10  
Fターム(参考) 4C084 AA17 MA52 MA66 NA14 ZB26 ZC75  
4C086 AA01 EA25 MA01 MA04 MA52 MA66 NA05 ZB26 ZC75  
4C090 BA50 BB52 DA23